[薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
112 (11) 804-816 (1992)]

Pyridazino[3,4-*b*]indole 誘導体の合成とその Benzodiazepine 受容体親和性について

下地康雄,* 富田邦之, 軽部利雄, 上岡利春
三共株式会社研究所

Synthesis and Benzodiazepine Receptor Binding Studies of Pyridazino[3,4-*b*]indoles

Yasuo SHIMOJI,* Kuniyuki TOMITA, Toshio KARUBE,
and Toshiharu KAMIOKA

Sankyo Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd., 2-58,
Hiromachi 1-chome, Shinagawa-ku, Tokyo 140, Japan

(Received June 12, 1992)

A series of methyl 9*H*-pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylates and related compounds were synthesized using a Diels-Alder reaction of methyl 3-(1*H*-indol-3-yl)-2-propenoates and dibenzyl azodicarboxylate. Several compounds were found to have high affinity for the benzodiazepine receptor. Their structure-activity relationships are discussed.

Keywords—Diels-Alder reaction; 9*H*-pyridazino[3,4-*b*]indole; 3-(1*H*-indol-3-yl)-2-propenoate; benzodiazepine receptor; structure-activity relationship; antianxiety

著者らは、分子内に indole 骨格を有する化合物の Diels-Alder 反応の研究から、3-(1*H*-indol-3-yl)-2-propenoate 類の分子内 Diels-Alder 反応により縮環インドール化合物 (A) を与えることを見出し、さらに、アミノ誘導体 (B) に変換した化合物の中に強力な抗不整脈作用を有することを見出した。¹⁾ 今回は、3-(1*H*-indol-3-yl)-2-propenoate 類に対する窒素-窒素二重結合の反応を検討したところ、容易に Diels-Alder 反応がおきて pyridazino[3,4-*b*]indole 骨格を与えることを見出した。Pyridazino[3,4-*b*]indole 骨格は、benzodiazepine (BZD) 受容体に高い親和性を有する ethyl β -carboline-3-carboxylate (β -CCE),²⁾ ethyl 5-benzyloxy-4-methoxymethyl- β -carboline-3-carboxylate (ZK-91296)³⁾ の基本骨格である β -carboline のアザー類縁体と考えることができる。現在まで pyridazino[3,4-*b*]indole 誘導体の合成は、小林ら⁴⁾により最初に合成されて以来、いくつかの合成法⁵⁾の報告がある。しかし、既知の方法では BZD 受容体親和性の発現に必要と考えられる pyridazino[3,4-*b*]indole 骨格の 3 位に選択的にカルボキシル基を導入することは困難である。著者らが開発した 3-(1*H*-indol-3-yl)-2-propenoate 類をジエンとして用いた Diels-Alder 反応による方法は現在ま

Chart 1

Chart 2

TABLE I. Physical and Biological Data of 1,2-Dihydro-9H-pyridazino[3,4-b]indole-3-carboxylates

Compd. No.	R	X ¹	X ²	Yield (%)	mp (°C) Recryst. solv.	Formula	Analysis (%)				[³ H]FNP ^a) binding IC ₅₀ nM
							Calcd	H	N	Br	
4a	Ac	H	H	42	118—120 (CH ₂ Cl ₂ -hexane-ether)	C ₃₀ H ₂₅ N ₃ O ₇	66.78 (66.91)	4.67 (4.59)	7.79 (7.84)		> 5000
4b	Ac	Br	H	31	148—150 (AcOEt-hexane)	C ₃₀ H ₂₄ BrN ₃ O ₇	58.26 (58.31)	3.91 (3.92)	6.79 (6.80)	12.92 (12.43)	> 5000
4c	Ac	MeO	MeO	91	Oil						
8	H	H	H	39	148—150 (AcOEt-hexane)	C ₂₈ H ₂₃ N ₃ O ₆	67.60 (67.38)	4.66 (4.38)	8.45 (8.28)		> 5000
Diazepam											3.4

a) FNP, flunitrazepam.

で知られておらず, pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate 誘導体を, 短工程で容易に合成することができた. さらに, 種々の pyridazino[3,4-*b*]indole 誘導体を合成して, 得られた化合物の BZD 受容体に対する親和性を検討したところ, 高い親和性を有することが見出された.

本報では, pyridazino[3,4-*b*]indole 誘導体の合成と, それら誘導体の BZD 受容体親和性との構造-活性相関を検討し, 知見を得たので報告する.

合成の部

Pyridazino[3,4-*b*]indole 誘導体の合成は, Chart 2 に示したように合成した.

Methyl 3-(1-acetyl-1*H*-indol-3-yl)-2-propenoate (**1a**)⁶⁾ と dibenzyl azodicarboxylate (**2**) を CHCl₃ 中 3 時間還流すると, 環化付加化合物 (**3**) を形成するが, **3** は不安定で精製不可能であった. そこで, **3** を単離することなく反応混合物に二酸化マンガンを加え酸化して, one pot で **4a** を約 42% の収率で得ることが出来た. つづいて, **4a** を CF₃COOH 中, dimethyl sulfide 又は, thioanisole で処理して, 脱 benzyloxycarbonyl 化及び脱水素化反応させて **5a** を 19% の収率で得た. **5a** を MeOH 中, 当モルの MeONa により脱アセチル化して脱アセチル体 (**6a**) を得た. ベンゼン環上に置換基を有する化合物 (**6b, c**) も methyl 3-(1-acetyl-1*H*-indol-3-yl)-2-propenoate 誘導体 (**1b, c**) より同様に合成した.

6a は, *N*-アセチル化されていない **7** から合成することもできる. すなわち, **7** と **2** とを CH₂Cl₂ 中室温で 24 時間反応させ, 環化付加反応につづいて脱水素化反応が進行した化合物 (**8**) が 38% の収率で得られた. つづいて, **8** を CF₃COOH 中, thioanisole により脱保護して, **6a** を 43% の収率で得た. しかし, ベンゼン環上に置換基を有する化合物 (**6b, c**) は, この方法で合成出来なかった.

化合物 (**6**) のエステル基の修飾は Chart 3, 4 に示した.

すなわち, **6a—c** と種々のアルコールをアルコールの存在下室温でエステル交換して, 化合物 (**6d—l**) が得られた. また, **6a** を水性 EtOH 中, アルカリ加水分解してカルボン酸 (**9**) を得た.

アミド誘導体 (**10a—c**) への変換は, **6a** とアミン類を MeOH 中室温で 48 時間反応させることにより行われた. ヒドラジド体 (**10d**) は, **6a** と hydrazine monohydrate を 80°C で 1 時間反応して得た. また, オキシム体 (**13**) は, **6a** を EtOH-tetrahydrofuran (THF) 中, NaBH₄-LiCl で還元して, アルコール体 (**11**) とした後, dioxane 中, 二酸化マンガンで酸化してアルデヒド体 (**12**) とし, ついで EtOH 中, 酢酸ナトリウムの存在下 hydroxylamine と反応させて目的化合物 (**13**) を得た. ヒドラゾン体 (**14**) は, **12** と *N,N*-dimethylhydrazine とを 100°C で 2 時間反応させて得た. また, **12** と methyl (triphenylphosphoranylidene)acetate とをベンゼン中加熱反応させてアクリル酸エステル体 (**17**) を得た.

Chart 3

Chart 4

上記合成した化合物の構造は、元素分析、赤外吸収 (IR) スペクトル、質量スペクトル (MS) 及び核磁気共鳴 (¹H-NMR) スペクトル等により決定した。

構造-活性相関

BZD 受容体親和性試験は、ラット全脳を用い、[³H]flunitrazepam 結合に対する阻害活性として、IC₅₀ 値で示した。合成した化合物の BZD 受容体結合能を、Table I—III に示す。

初めに 9H-pyridazino[3,4-b]indole-3-carboxylic acid のエステル誘導体と BZD 受容体親和性との関係を比較検討した (Table II). R が ethyl 基で最大の親和性を示し、その鎖の長さは ethyl 基より短くても、長くても親和性は減弱した。しかし benzyl ester (6h), 3-pyridyl methyl ester (6j) は BZD 受容体親和性を保持しており、とくに benzyl ester (6h) は methyl ester (6a) とほぼ同程度であった。9-Acetyl 体 (5a) 及び、カルボン酸 (9) は非常に弱い BZD 受容体親和性しか示さなかった。また、benzene 環上の置換基について検討してみると、6 位に Br を導入した化合物 (6b, k) は、無置換の化合物とほぼ同程度の BZD 受容体親和性を有していたが、6,7-dimethoxy 基を導入した化合物 (6c, l) では、親和性が消失した。

エステル基をアミド基に変換した化合物 (10a—d) (Table III) は、CONH₂ 体 (10a) に弱い BZD 受容体親和性が認められたが、それ以外のアミド体 (10b—d) には親和性が認められなかった。また、oxime 及び hydrazone に変換した化合物 (13, 14) は中程度の BZD 受容体親和性を示した。Methyl acrylate 体 (15a, b) では ethyl ester (6d) とほぼ同程度の、高い BZD 受容体親和性を示した。Methyl acrylate 体の幾何異性体である E 体 (15a) 及び Z 体 (15b) 間での BZD 受容体親和性の差は認められなかった。中間体の methanol 体 (11), aldehyde 体 (12) は、BZD 受容体親和性を示さなかった。また、9H-pyridazino[3,4-b]indole-3-carboxylate 誘導体の中間体である 1,2-dihydro-9H-pyridazino[3,4-b]indole-3-carboxylate 誘導体 (4a, b, 8) も、BZD 受容体親和性を示さなかった。

以上の 9H-pyridazino[3,4-b]indole 誘導体と BZD 受容体親和性との関係をまとめると次のようになる。

(1) 3 位エステル基の R の長さと BZD 受容体親和性は、ethyl 基で最も高い親和性を示し、

TABLE II. Physical and Biological Data of 9H-Pyridazino[3,4-b]indole-3-carboxylates

Compd. No.	R ¹	R ²	X ¹	X ²	Yield (%)	mp (°C) Recryst. solv.	Formula	Analysis (%)				[³ H]FNP ^a binding IC ₅₀ nM
								C	H	N	Br	
5a	Ac	Me	H	H	19	224–226 (dec.) (AcOEt)	C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O ₃	62.45 (62.26)	4.12 (4.29)	15.61 (15.53)		2600
5b	Ac	Me	Br	H	51	255–257 (dec.) (DMF)	C ₁₄ H ₁₀ BrN ₃ O ₃	48.30 (48.30)	2.90 (2.91)	12.07 (12.19)	22.95 (22.62)	>5000
5c	Ac	Me	MeO	MeO	43	246–248 (dec.) (DMF)	C ₁₆ H ₁₅ N ₃ O ₆	58.36 (58.18)	4.59 (4.64)	12.76 (12.77)		>5000
6a	H	Me	H	H	76	246–248 (dec.) (EtOH)	C ₁₂ H ₉ N ₃ O ₂	63.43 (63.44)	3.99 (4.22)	18.49 (18.49)		62
6b	H	Me	Br	H	87	287 (dec.) (Dioxane)	C ₁₃ H ₈ BrN ₃ O ₂	47.08 (47.13)	2.63 (2.87)	13.73 (13.39)	26.10 (26.47)	26
6c	H	Me	MeO	MeO	95	264–265 (dec.) (Dioxane)	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₄	58.53 (58.78)	4.56 (4.71)	14.63 (14.37)		>5000
6d	H	Et	H	H	80	241–243 (dec.) (EtOH)	C ₁₃ H ₁₁ N ₃ O ₂	64.72 (64.78)	4.60 (4.78)	17.42 (17.37)		25
6e	H	<i>n</i> -Pr	H	H	89	218–219 (AcOEt)	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₂	65.87 (65.84)	5.13 (5.26)	16.46 (16.57)		78
6f	H	iso-Pr	H	H	77	214–216 (Acetone-AcOEt)	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₂	65.87 (65.78)	5.13 (5.03)	16.46 (16.32)		220
6g	H	<i>n</i> -Bu	H	H	87	178–180 (Acetone-AcOEt)	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₂	66.90 (66.72)	5.61 (5.62)	15.60 (15.63)		1000
6h	H	Bn	H	H	43	235–237 (Acetone-AcOEt)	C ₁₈ H ₁₉ N ₃ O ₂	71.28 (71.01)	4.32 (4.28)	13.85 (13.86)		66
6i	H	-CH ₂ CH ₂ OMe	H	H	42	189–191 (Acetone-AcOEt)	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₃	61.99 (61.67)	4.83 (4.66)	15.49 (15.55)		630
6j	H	-CH ₂ -	H	H	30	225–227 (Acetone-AcOEt)	C ₁₇ H ₁₂ N ₄ O ₂	67.10 (66.69)	3.97 (3.87)	18.41 (18.30)		200
6k	H	Et	Br	H	87	274 (dec.) (EtOH)	C ₁₃ H ₁₀ BrN ₃ O ₂	48.77 (48.66)	3.15 (2.91)	13.13 (12.86)	24.96 (25.11)	37
6l	H	Et	MeO	MeO	79	263 (dec.) (EtOH-AcOEt)	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₄	59.80 (59.77)	5.02 (4.88)	13.95 (14.09)		1300
9	H	H	H	H	84	230–235 (dec.) (EtOH)	C ₁₁ H ₇ N ₃ O ₂	61.97 (61.87)	3.31 (3.72)	19.71 (19.49)		>5000
Diazepam												3.4

a) FNP, flunitrazepam.

TABLE III. Physical and Biological Data of 9*H*-Pyridazino[3,4-*b*]indoles

Compd. No.	R	Yield (%)	mp (°C) Recryst. solv.	Formula	Analysis (%)			[³ H]FNP ^a) binding IC ₅₀ nM
					Calcd	Found	N	
10a	-CONH ₂	91	>300 (EtOH)	C ₁₁ H ₈ N ₄ O	62.25 (62.06)	3.80 (4.06)	26.40 (26.08)	2400
10b	-CONHMe	50	>300 (MeOH-AcOEt)	C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O	59.01 (59.41)	4.95 (4.55)	22.94 (22.95)	>5000
10c	-CON(Me) ₂	76	289–292 (dec.) (EtOH)	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O	64.99 (64.90)	5.03 (5.23)	23.32 (23.50)	>5000
10d	-CONHNH ₂	85	>280 (MeOH-AcOEt)	C ₁₁ H ₉ N ₅ O	58.15 (57.84)	3.99 (3.80)	30.82 (30.38)	>5000
11	-CH ₂ OH	71	230–232 (dec.) (MeOH-AcOEt)	C ₁₁ H ₉ N ₄ O	66.32 (66.54)	4.55 (4.67)	21.09 (20.69)	4000
12	-CHO	74	285–288 (dec.) (Dioxane)	C ₁₁ H ₇ N ₄ O	67.00 (66.64)	3.58 (3.81)	21.31 (21.09)	3500
13	-CH=N-OH	77	271–273 (dec.) (EtOH)	C ₁₁ H ₈ N ₄ O	62.25 (62.15)	3.80 (4.06)	26.40 (26.39)	220
14	-CH=NN(Me) ₂	55	285 (dec.) (EtOH-AcOEt)	C ₁₃ H ₁₃ N ₅	65.25 (64.93)	5.48 (5.43)	29.27 (28.95)	230
15a	-CH=CHCO ₂ Me (<i>E</i>)	44	247 (dec.) (MeOH-AcOEt)	C ₁₄ H ₁₁ N ₄ O ₂	66.40 (66.26)	4.38 (4.43)	16.59 (16.65)	39
15b	-CH=CHCO ₂ Me (<i>Z</i>)	13	216–217 (dec.) (AcOEt)	C ₁₄ H ₁₁ N ₄ O ₂	66.40 (66.38)	4.38 (4.68)	16.59 (16.59)	39
Diazepam								3.4

a) FNP, flunitrazepam.

その鎖の長さが ethyl 基より短くても長くても、親和性は低下した。しかし benzyl ester (6h), 3-pyridylmethyl ester (6j) では BZD 受容体親和性が保持されていた。

(2) Benzene 環上の置換基の導入による親和性の向上は見られなかった。

(3) 3 位エステル基をアミド基に変換すると親和性は消失した。

(4) 3 位の aldehyde 基を oxime 及び hydrazone に変換した化合物は、中程度の BZD 受容体親和性を示した。

(5) 3 位の aldehyde 基を methyl acrylate 体 (15a, b) に変換すると ethyl ester 体 (6d) とほぼ同程度の、高い BZD 受容体親和性を示した。また、E 体 (15a) 及び Z 体 (15b) 間の BZD 受容体親和性の差は認められなかった。

以上、今回合成した化合物の中で diazepam には及ばないものの、高い BZD 受容体親和性を有する化合物がいくつか見出された。とくに化合物 (6d) は IC_{50} 値が 25 nM の高い BZD 受容体親和性を有していた。

実験の部

融点は未補正である。赤外線吸収 (IR) スペクトルは、JASCO A-102 型と JASCO FT-IR8300 型分光光度計を使用した。核磁気共鳴 (1H -NMR) スペクトルは、EM-390 (90 MHz) と JEOL JNM-EX270 (270 MHz) 型分光光度計を使用し、tetramethylsilane を内部標準として化学シフトは δ 値 (ppm) で示し、結合定数 (J) は Hz で表した (略号: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; br, broad)。質量スペクトル (MS) は JMS-G300 と JEOL JNS-AX505H を使用した。クロマトグラフのシリカゲルは Kieselgel 60 Art. 7734 を使用した。

Methyl 9-Acetyl-1,2-dibenzoyloxycarbonyl-1,2-dihydro-9H-pyridazino[3,4-b]indole-3-carboxylate (4a) Methyl 3-(1-acetyl-1H-indol-3-yl)-2-propenoate (1a) 2.40 g (9.87 mmol) と dibenzyl azodicarboxylate (2) 3.10 g (10.4 mmol) の $CHCl_3$ 100 ml 溶液を 3h 攪拌下、還流したのち、反応混合物に二酸化マンガン 10 g を加え室温で 1h、還流下 5 min 攪拌した。反応混合物を濾過し、濾液を減圧濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (hexane : AcOEt = 4 : 1) で精製した後、 CH_2Cl_2 -hexane- Et_2O より再結晶して、mp 118—120°C の結晶性粉末 (4a) 2.25 g (42%) を得た。IR (KBr) cm^{-1} : 1748 (C=O), 1720 (C=O)。 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 2.58 (3H, s, Ac), 3.74 (3H, s, OMe), 5.02—5.48 (4H, m, $-CH_2Ph$), 7.20—7.68 (4H, m, aromatic-H), 7.32 (5H, s, $-CH_2Ph$), 7.37 (5H, s, $-CH_2Ph$), 8.30—8.50 (1H, m, C-8H)。MS m/z : 539 (M^+)。

Methyl 9-Acetyl-1,2-dibenzoyloxycarbonyl-6-bromo-1,2-dihydro-9H-pyridazino[3,4-b]indole-3-carboxylate (4b) 4a と同様にして 1b 2.50 g (7.76 mmol) より、mp 148—150°C の結晶性粉末 (4b, AcOEt-hexane より再結晶) 1.50 g (31%) を得た。IR (KBr) cm^{-1} : 1746 (C=O), 1718 (C=O)。 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 2.58 (3H, s, Ac), 3.73 (3H, s, OMe), 5.00—5.55 (4H, m, $-CH_2Ph$), 7.15—7.80 (14H, m, aromatic-H), 8.28 (1H, d, $J=9.0$ Hz, C-8H)。MS m/z : 617, 619 (M^+)。

Methyl 9-Acetyl-1,2-dibenzoyloxycarbonyl-1,2-dihydro-6,7-dimethoxy-9H-pyridazino[3,4-b]indole-3-carboxylate (4c) 4a と同様にして 1c 1.90 g (6.26 mmol) より、油状物 (4c) 3.40 g (91%) を得た。 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 2.55 (3H, s, Ac), 3.67 (3H, s, $-COOMe$), 3.88 (6H, s, OMe), 4.90—5.50 (4H, m, $-CH_2Ph$), 6.95 (1H, s, C-5H), 7.23 (5H, s, $-CH_2Ph$), 7.28 (5H, s, $-CH_2Ph$), 7.49 (1H, s, C-8H), 7.97 (1H, s, C-4H)。

Methyl 9-Acetyl-9H-pyridazino[3,4-b]indole-3-carboxylate (5a) 4a 13.00 g (24.1 mmol) の CF_3COOH 50 ml 溶液に、室温で thioanisole 25 ml 加えた後、混合物を室温で 24h 攪拌した。反応混合物を減圧濃縮し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CH_2Cl_2) で精製した後、

AcOEt より再結晶して, mp 224—226°C (dec.) の針状結晶 (**5a**) 1.26 g (19%) を得た. IR (KBr) cm^{-1} : 1725 (C=O), 1715 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 3.30 (3H, s, Ac), 4.15 (3H, s, OMe), 7.51—7.58 (1H, m, aromatic-H), 7.73—7.81 (1H, m, aromatic-H), 8.17 (1H, d, $J=8.5$ Hz, C-5H), 8.76 (1H, s, C-4H), 8.78 (1H, d, $J=8.5$ Hz, C-8H). MS m/z : 269 (M^+).

Methyl 9-Acetyl-6-bromo-9H-pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (5b) **5a** と同様にして **4b** 1.50 g (2.43 mmol) より, mp 255—257°C (dec.) の結晶性粉末 (**5b**, DMF より再結晶) 0.43 g (51%) を得た. IR (KBr) cm^{-1} : 1721 (C=O), 1713 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 3.15 (3H, s, Ac), 4.03 (3H, s, -COOMe), 7.91 (1H, d, $J=8.9$ Hz, C-7H), 8.49 (1H, d, $J=8.9$ Hz, C-8H), 8.82 (1H, s, C-5H), 9.12 (1H, s, C-4H). MS m/z : 347, 349 (M^+).

Methyl 9-Acetyl-6,7-dimethoxy-9H-pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (5c) **5a** と同様にして **4c** 3.40 g (5.68 mmol) より, mp 246—248°C (dec.) の結晶性粉末 (**5c**, DMF より再結晶) 0.80 g (43%) を得た. IR (KBr) cm^{-1} : 1728 (C=O), 1713 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 2.88 (3H, s, Ac), 3.65 (3H, s, OMe), 3.69 (3H, s, OMe), 3.86 (3H, s, -COOMe), 7.65 (1H, s, aromatic-H), 7.73 (1H, s, aromatic-H), 8.55 (1H, s, C-4H). MS m/z : 329 (M^+).

Methyl 9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6a) A) **5a** からの合成——**5a** 1.00 g (3.71 mmol) の MeOH 20 ml 懸濁液に, 氷冷下, MeONa 201 mg (3.72 mmol) を加え, 混合物を室温で 1h 攪拌した. 反応混合物を氷水中に注加し, 析出した結晶を濾取, 水洗した後, EtOH より再結晶して, mp 246—248°C (dec.) の針状結晶 (**6a**) 640 mg (76%) を得た. IR (KBr) cm^{-1} : 3310 (NH), 1720 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 4.01 (3H, s, OMe), 7.36—7.46 (1H, m, aromatic-H), 7.62—7.79 (2H, m, aromatic-H), 8.51 (1H, d, $J=7.9$ Hz, aromatic-H), 9.05 (1H, s, C-4H), 12.8 (1H, br, NH). MS m/z : 227 (M^+).

B) **Methyl 1,2-Dibenzoyloxycarbonyl-1,2-dihydro-9H-pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (8)** からの合成——**Methyl 3-(1H-indol-3-yl)-2-propenoate (7)** 10.00 g (49.7 mmol) と **2** 25.00 g (83.8 mmol) の CH_2Cl_2 300 ml 溶液を, 室温で 24 h 攪拌した. 反応混合物を減圧濃縮し, 残留物を Et_2O で洗浄した後, AcOEt-hexane より再結晶して, mp 148—150°C (dec.) の結晶性粉末 (**8**) 9.50 g (39%) を得た. IR (KBr) cm^{-1} : 3250 (NH), 1750 (C=O), 1730 (C=O), 1710 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.76 (3H, s, OMe), 5.00—5.47 (4H, m, - CH_2Ph), 7.06—7.70 (14H, m, aromatic-H), 7.85 (1H, s, C-4H), 10.00 (1H, br, NH). MS m/z : 497 (M^+).

得られた **8** 9.50 g (19.1 mmol) の CF_3COOH 50 ml 溶液に, 室温で thioanisole 20 ml を加えた後, 室温で 24 h 攪拌した. 反応混合物を減圧濃縮し, 残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt: hexane=1:1) で精製した後, EtOH より再結晶して, mp 246—248°C (dec.) の針状結晶 (**6a**) 1.90 g (44%) を得た.

Methyl 6-Bromo-9H-pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6b) **6a** と同様にして **5b** 350 mg (1.01 mmol) より, mp 287°C (dec.) の針状結晶 (**6b**, dioxane より再結晶) 270 mg (87%) を得た. IR (KBr) cm^{-1} : 1708 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 4.00 (3H, s, -COOMe), 7.62 (1H, d, $J=8.6$ Hz, C-8H), 7.84 (1H, dd, $J=8.6, 2.0$ Hz, C-7H), 8.80 (1H, d, $J=2.0$ Hz), 9.13 (1H, s, C-4H), 13.01 (1H, s, NH). MS m/z : 305, 307 (M^+).

Methyl 6,7-Dimethoxy-9H-pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6c) **6a** と同様にして **5c** 300 mg (0.912 mmol) より, mp 264—265°C (dec.) の針状結晶 (**6c**, dioxane より再結晶) 250 mg (95%) を得た. IR (KBr) cm^{-1} : 1725 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 3.90 (3H, s, OMe), 3.96 (3H, s, OMe), 4.01 (3H, s, OMe), 7.13 (1H, s, C-8H), 8.04 (1H, s, C-5H), 8.90 (1H, s, C-4H). MS m/z : 287 (M^+).

9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate 誘導体 (6d—l) 代表例として ethyl 9H-pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6d) について記す。

NaH (55% 鉱油懸濁) 192 mg (4.4 mmol) を EtOH 20 ml に室温で溶解した中に, 6a 500 mg (2.20 mmol) を加え, 室温で 30 min 攪拌した。反応混合物を氷水に注加し, 析出した結晶を濾取, 水洗した後, EtOH で再結晶して, mp 241—243°C (dec.) のプリズム状結晶 (6d) 426 mg (80%) を得た。IR (KBr) cm^{-1} : 1733 (C=O)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.43 (3H, t, $J=7.3$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.48 (2H, q, $J=7.3$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 7.37—7.45 (1H, m, aromatic-H), 7.62—7.77 (2H, m, aromatic-H), 8.51 (1H, d, $J=7.9$ Hz, C-5H), 9.04 (1H, s, C-4H), 12.87 (1H, s, NH)。MS m/z : 241 (M^+)。

***n*-Propyl 9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6e)** mp 218—219°C. IR (KBr) cm^{-1} : 1706 (C=O)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.05 (3H, t, $J=7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.63—2.10 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.40 (2H, t, $J=7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 7.30—7.90 (3H, m, aromatic-H), 8.53 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 9.07 (1H, s, C-4H)。MS m/z : 255 (M^+)。

Isopropyl 9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6f) mp 214—216°C. IR (KBr) cm^{-1} : 1703 (C=O)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.44 (6H, d, $J=7$ Hz, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 5.05—5.60 (1H, m, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 7.30—7.90 (3H, m, aromatic-H), 8.50 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 9.05 (1H, s, C-4H), 12.95 (1H, br, NH)。MS m/z : 255 (M^+)。

***n*-Butyl 9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6g)** mp 178—180°C. IR (KBr) cm^{-1} : 1707 (C=O)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 0.98 (3H, t, $J=7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.30—2.00 (4H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.45 (2H, t, $J=7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 7.30—7.90 (3H, m, aromatic-H), 8.52 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 9.07 (1H, s, C-4H), 12.95 (1H, br, NH)。MS m/z : 269 (M^+)。

Benzyl 9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6h) mp 235—237°C. IR (KBr) cm^{-1} : 1703 (C=O)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 5.58 (2H, s, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 7.30—7.90 (9H, m, aromatic-H), 8.53 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 9.10 (1H, s, C-4H), 12.98 (1H, br, NH)。MS m/z : 303 (M^+)。

2-Methoxyethyl 9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6i) mp 189—191°C. IR (KBr) cm^{-1} : 1705 (C=O)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 3.39 (3H, s, OMe), 3.77 (2H, t, $J=4$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OMe}$), 4.60 (2H, t, $J=4$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OMe}$), 7.30—7.90 (3H, m, aromatic-H), 8.53 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 9.08 (1H, s, C-4H), 12.90 (1H, br, NH)。MS m/z : 271 (M^+)。

3-Pyridylmethyl 9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6j) mp 225—227°C. IR (KBr) cm^{-1} : 1704 (C=O)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 5.58 (2H, s, $-\text{CH}_2-$), 7.30—8.20 (5H, m, aromatic-H), 8.45—8.90 (3H, m, aromatic-H), 9.13 (1H, m, C-4H), 12.97 (1H, br, NH)。MS m/z : 304 (M^+)。

Ethyl 6-Bromo-9H-pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6k) mp 274°C (ded.). IR (KBr) cm^{-1} : 1707 (C=O)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.40 (3H, t, $J=7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.48 (2H, q, $J=7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 7.62 (1H, d, $J=8$ Hz, C-8H), 7.83 (1H, dd, $J=8, 1$ Hz, C-7H), 8.80 (1H, d, $J=1$ Hz, C-5H), 9.12 (1H, s, C-4H), 13.00 (1H, br, NH)。MS m/z : 319, 321 (M^+)。

Ethyl 6,7-Dimethoxy-9H-pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (6l) mp 263°C (dec.). IR (KBr) cm^{-1} : 1715 (C=O)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.43 (3H, t, $J=7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.90 (3H, s, $-\text{OMe}$), 3.96 (3H, s, $-\text{OMe}$), 4.48 (2H, q, $J=7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 7.16 (1H, s, C-8H), 8.07 (1H, s, C-5H), 8.90 (1H, s, C-4H), 12.60 (1H, br, NH)。MS m/z : 301 (M^+)。

9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxylic Acid (9) 6a 500 mg (2.20 mmol) の MeOH 10 ml 溶液に 1 N NaOH 4.4 ml を加え, 2 h 攪拌還流した。反応混合物を減圧濃縮し, 残留物に水を加え,

さらに 1 N HCl 4.4 ml により中和した。析出する結晶を濾取、水洗、EtOH より再結晶して、mp 230—235°C (dec.) のプリズム状結晶 (9) 392 mg (84%) を得た。IR (KBr) cm^{-1} : 1695 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 7.37—7.46 (1H, m, aromatic-H), 7.63—7.78 (2H, m, aromatic-H), 8.51 (1H, d, $J=7.9$ Hz, aromatic-H), 9.06 (1H, s, C-4H), 12.83 (1H, s, NH), 13.30 (1H, br, COOH). MS m/z : 213 (M^+).

9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxamide (10a) 6a 200 mg (0.88 mmol) の 20% NH_3/MeOH 30 ml 溶液を、室温で 48 h 攪拌した。反応混合物を減圧濃縮し、残留物を EtOH より再結晶して、mp 300°C 以上の針状結晶 (10a) 0.17 g (91%) を得た。IR (KBr) cm^{-1} : 3461 (NH), 1701 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 7.33—7.43 (1H, m, aromatic-H), 7.60—7.78 (1H, m, aromatic-H), 8.49 (1H, d, $J=7.9$ Hz, C-5H), 9.01 (1H, s, C-4H), 12.72 (1H, br, NH). MS m/z : 212 (M^+).

N-Methyl-9H-pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxamide (10b) 6a 300 mg (1.32 mmol) の 30% $\text{MeNH}_2/\text{MeOH}$ 20 ml 溶液を、室温で 30 min 攪拌した。反応混合物を減圧濃縮し、残留物を MeOH-AcOEt より再結晶して、mp 300°C 以上の板状結晶 (10b) 150 mg (50%) を得た。IR (KBr) cm^{-1} : 3461 (NH), 1702 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 2.95 (3H, d, $J=4$ Hz, NHMe), 7.25—7.85 (3H, m, aromatic-H), 8.53 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 9.02 (1H, m, C-4H), 9.12 (1H, m, NHMe), 12.85 (1H, br, NH). MS m/z : 226 (M^+).

N,N-Dimethyl-9H-pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carboxamide (10c) 6a 300 mg (1.32 mmol) の 3% $(\text{Me})_2\text{NH}/\text{MeOH}$ 100 ml 溶液を、室温で 24 h 攪拌した。反応混合物を減圧濃縮し、残留物を EtOH より再結晶して、mp 289—292°C (dec.) のプリズム状結晶 (10c) 240 mg (76%) を得た。IR (KBr) cm^{-1} : 1661 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 3.13 (3H, s, $\text{CON}(\text{Me})(\text{Me})$), 3.17 (3H, s, $\text{CON}(\text{Me})(\text{Me})$), 7.27—7.90 (3H, m, aromatic-H), 8.43 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 8.67 (1H, s, C-4H), 12.80 (1H, br, NH). MS m/z : 240 (M^+).

9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carbohydrazide (10d) 6a 200 mg (0.880 mmol) を hydrazine monohydrate 3 ml に加え、80°C で 1 h 攪拌した。反応混合物を氷水に注加し、析出した結晶を濾取、水洗し、MeOH-AcOEt より再結晶して、mp 280°C 以上の結晶性粉末 (10d) 170 mg (85%) を得た。IR (KBr) cm^{-1} : 3326 (NH), 1684 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 4.67 (2H, br, CONHNH_2), 7.25—7.85 (3H, m, aromatic-H), 8.52 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 9.00 (1H, s, C-4H), 10.20 (1H, br, NH), 12.80 (1H, br, NH). MS m/z : 227 (M^+).

9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-methanol (11) 6a 800 mg (3.52 mmol) と LiCl 300 mg (7.14 mmol) を EtOH 60 ml と THF 40 ml の混合溶媒に加え、氷冷下 NaBH_4 250 mg (6.58 mmol) を少量ずつ加えた後、室温で 4h 攪拌した。反応混合物を減圧濃縮し、残留物に氷水を加え塩酸で酸性にしてから NaHCO_3 で中和した。析出した結晶を濾取、水洗した後、MeOH-AcOEt より再結晶して、mp 230—232°C (dec.) の結晶性粉末 (11) 500 mg (71%) を得た。IR (KBr) cm^{-1} : 1632, 1606. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 5.03 (2H, s, $-\text{CH}_2\text{OH}$), 5.65 (1H, br, $-\text{CH}_2\text{OH}$), 7.23—7.48 (1H, m, aromatic-H), 7.58—7.82 (2H, m, aromatic-H), 8.39 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 8.47 (1H, s, C-4H), 12.32 (1H, br, NH). MS m/z : 199 (M^+).

9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carbaldehyde (12) 11 1.10 g (5.52 mmol) の dioxane 200 ml 溶液に、二酸化マンガン 4.00 g を加え、6 h 攪拌還流した。反応混合物を熱時濾過し、濾液を減圧濃縮した。残留物を $\text{Et}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ で洗浄してから、dioxane で再結晶して、mp 285—288°C (dec.) の針状結晶 (12) 800 mg (74%) を得た。IR (KBr) cm^{-1} : 1700 (CHO). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 7.32—7.53 (1H, m, aromatic-H), 7.60—7.95 (2H, m, aromatic-H), 8.53 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 8.98 (1H, s, C-4H), 10.48 (1H, s, CHO), 13.04 (1H, br, NH). MS m/z : 197 (M^+).

9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carbaldehyde Oxime (13) 12 200 mg (1.01 mmol) の EtOH 50 ml 溶液に, hydroxylamine HCl 150 mg と AcONa 200 mg を加え, 2 h 攪拌還流した. 反応混合物を氷水に注加し, 析出した結晶を濾取, 水洗し EtOH より再結晶して, mp 271—273°C (dec.) の結晶性粉末 (13) 164 mg (77%) を得た. IR (KBr) cm^{-1} : 1634, 1608. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 7.28—7.50 (1H, m, aromatic-H), 7.53—7.84 (2H, m, aromatic-H), 8.48 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 8.58 (1H, s, C-4H), 8.80 (1H, s, $-\text{CH}=\text{NOH}$), 11.76 (1H, s, OH), 12.57 (1H, s, NH). MS m/z : 212 (M^+).

9H-Pyridazino[3,4-*b*]indole-3-carbaldehyde Dimethylhydrazone (14) 12 100 mg (0.507 mmol) と *N,N*-dimethylhydrazine 1 ml の DMF 10 ml 溶液を加え, 100°C で 1 h 攪拌した. 反応混合物を氷水に注加し, 析出した結晶を濾取, 水洗し, EtOH-AcOEt より再結晶して, mp 285°C (dec.) の結晶性粉末 (14) 66 mg (55%) を得た. IR (KBr) cm^{-1} : 1670, 1631. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 3.08 (6H, s, $-\text{NMe}_2$), 7.18—7.40 (1H, m, aromatic-H), 7.50—7.80 (3H, m, aromatic-H, $-\text{CH}=\text{N}-$), 8.40 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 8.64 (1H, s, C-4H), 12.30 (1H, br, NH). MS m/z : 239 (M^+).

Methyl (*E*)-3-(9H-Pyridazino[3,4-*b*]indol-3-yl)-2-propenoate (15a) 及び (*Z*)-異性体 (15b) 12 200 mg (1.01 mmol) と methyl (triphenylphosphoranylidene)acetate 400 mg (1.20 mmol) の mesitylene 10 ml 溶液を, 2 h 攪拌還流した. 反応混合物を室温まで冷却し, 析出した結晶を濾取した. MeOH-AcOEt より再結晶して, mp 247°C (dec.) のプリズム状結晶 (15a) 113 mg (44%) を得た. IR (KBr) cm^{-1} : 1718 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 3.83 (3H, s, $-\text{COOMe}$), 7.06 (1H, d, $J=16$ Hz, $-\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{Me}$), 7.28—7.52 (1H, m, aromatic-H), 7.60—7.87 (2H, m, aromatic-H), 8.05 (1H, d, $J=16$ Hz, $-\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{Me}$), 7.35 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 8.92 (1H, s, C-4H), 12.72 (1H, br, NH). MS m/z : 253 (M^+).

濾液を減圧濃縮し, 残留物を AcOEt より再結晶して, mp 216—217°C (dec.) の板状結晶 (15b) 33 mg (13%) を得た. IR (KBr) cm^{-1} : 1714 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 3.73 (3H, s, $-\text{COOMe}$), 6.32 (1H, d, $J=12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{Me}$), 7.44 (1H, d, $J=12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{Me}$), 7.25—7.87 (3H, m, aromatic-H), 8.33 (1H, d, $J=8$ Hz, C-5H), 8.80 (1H, s, C-4H), 12.60 (1H, br, NH), MS m/z : 253 (M^+).

BZP 受容体 Binding Assay Synaptosome の調製及び binding assay は Braestrup と Squires の方法⁷⁾に準じて行った. 体重 300 g の Wistar ラットを断頭して, 直ちに全脳を取り出し, 20 倍容量の氷冷 0.32 M sucrose でホモジナイズした. ホモジネートを 2000 g, 4°C で 5 分間遠沈し (トミー, 90 UV), その上澄みを更に 30000 g, 4°C で 10 分間遠沈した (日立, 65P). 生じた pellet を 50 倍量の氷冷 Tris-HCl 50 mM buffer (pH 7.1) に懸濁した. 調製した synaptosome 460 μl に試験薬物溶液又は溶媒 dimethylsulfoxide 5 μl と 28 nM[methyl- ^3H]flunitrazepam(^3H -FNP)30 μl を加え, 直ちに氷冷して 60 分間放置した. その後, 反応液に 5 ml の氷冷 Tris-HCl 50 mM buffer (pH 7.1) を加え, 直ちに Whatman GF/C glass fiber filter で濾過し, 更に氷冷した 5 ml の同 buffer で filter を洗浄した. Filter を乾燥後, ^3H を Omnifluor-toluene Scintillator で測定した. [^3H]FNP の非特異的結合量は 60 μM 非標識 diazepam 20 μl を氷冷 60 分前に加えたものとし, 特異的結合量は非標識 diazepam を加えない時の [^3H]FNP の結合量から, 加えた時の [^3H]FNP の結合量を引いた値とした. 試験化合物の IC_{50} 値はそれぞれの相関曲線より求めた.

引用文献及び注

- 1) Y. Shimoji, F. Saito, K. Tomita, Y. Morisawa, *Heterocycles*, **32**, 2389 (1991); Y. Shimo-

- ji, K. Tomita, T. Hashimoto, F. Saito, Y. Morisawa, H. Mizuno, R. Yorikane, H. Koike, *J. Med. Chem.*, **35**, 816 (1992).
- 2) M. Nielsen, C. Braestrup, *Nature* (London), **286**, 606 (1980).
 - 3) T. Honore, M. Nielsen, C. Braestrup, *Eur. J. Pharmacol.*, **100**, 103 (1984).
 - 4) G. Kobayashi, S. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **12**, 1129 (1964); 小林五朗, 古川 淳, 松田芳郎, 夏木令子, 薬誌, **89**, 58 (1969).
 - 5) V. Sprio, S. Piescia, *Ann. Chim. (Rome)*, **61**, 655 (1971) [*Chem. Abstr.*, **76**, 113155s (1972)]; A. Kubo, T. Nakai, T. Nozoye, *Heterocycles*, **4**, 1675 (1976); S. J. Clarke, D. E. Davies, T. L. Gilchrist, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1983**, 1803; A. Corsico Coda, G. Desimoni, M. Pappalardo, P. P. Righetti, P. F. Seneci, G. Taccini, *Tetrahedron*, **41**, 2545 (1985).
 - 6) M. N. Preobrazhenskaya, L. A. Savel'eva, K. F. Turchin, N. N. Suvorov, *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **179**, 884 (1968) [*Chem. Abstr.*, **69**, 86745f (1968)].
 - 7) C. Braestrup, R. F. Squires, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **74**, 3805 (1977).